*R.R. Istituti Clinici di Perfezionamento in Milano.*
*Clinica delle Malattie Professionali (Direttore prof. L. Devoto)*

Omaggio
367

# I leucociti e i gas del sangue nell'avvelenamento da anidride carbonica, nel digiuno e nella rialimentazione

**Dott. Mario Giovini**
assistente e libero docente

*Estratto della "Riforma Medica" Anno XXIX. N. 41.*

NAPOLI
COOPERATIVA TIPOGRAFICA
*Sezione "Riforma Medica"*
Largo de' Bianchi allo Spirito Santo. Num. 1 a 10
(Telefono 40-54)
1913.

*R.R. Istituti Clinici di Perfezionamento in Milano.*
*Clinica delle Malattie Professionali (Direttore prof. L. Devoto)*

# I leucociti e i gas del sangue nell'avvelenamento da anidride carbonica, nel digiuno e nella rialimentazione

**Dott. Mario Giovini**
assistente e libero docente.

*Estratto della "Riforma Medica" Anno XXIX. N. 41.*

NAPOLI
COOPERATIVA TIPOGRAFICA
*Sezione "Riforma Medica"*
Largo de' Bianchi allo Spirito Santo. Num. 1 a 10
(Telefono 40-54)
1913.

In precedenti ricerche, comunicate alla Società lombarda di Scienze mediche e Biologiche (28 giugno 1912), avevo dimostrata la capacità dell' anidride carbonica a determinare negli animali impiegati (cavia, ratto, cane), in aria confinata, una leucocitosi ed una rilevante polinucleosi neutrofila, tale da invertir sempre (linfociti-polinucleati) la formola emoleucocitaria propria di questi mammiferi. Ed avevo insieme segnalata nel midollo osseo (femore) di cane, il più adatto allo scopo anche per una maggior durata d' azione del $C0_2$, un evidente diradamento di polimorfi, in confronto di controlli in aria libera, e di cani respiranti in atmosfere parimenti circoscritte, ma ricche di ossigeno.

Nelle presenti ricerche, essendomi dapprima proposto di requisir criteri sulla durata di questa reazione leucocitaria, mi attenni alla cavia, siccome quella che avevo vista non differire dagli altri animali da me impiegati.

Cavie, pertanto, sempre digiune dalla sera avanti (ore 21), e di cui era esaminata la formola leucocitaria prima dell' asfissia temporanea (ore 11 del dì seguente), venivano riesaminate subito dopo (ore 12) e, quindi, in ore successive dello stesso giorno. Per moderare la pur tenuissima sottrazione di sangue suf-

ficiente alle singole prove, eseguite da vene sempre diverse, insieme a cavie (Gruppo A), per le quali il procedimento era il solito (tre assaggi in ore diverse), altre ve n' erano, (Gruppo B), in identiche condizioni di nutrimento di peso e d' azione del $CO_2$, per le quali la prova iniziale si ometteva, prendendo le mosse dal reperto immediatamente successivo all' asfissia, così che l' ultimo assaggio, posteriore di tempo, non esorbitasse dal consueto numero. La capacità della campana di cristallo a cui le cavie venivano sottoposte, era sempre la stessa (cmc. 8000).

E riferisco ancora delle medie, per brevità soltanto, avendo assistito, qui come altrove nelle ricerche sui leucociti, ad una rimarcabile corrispondenza tra causa, nel mio caso, ed effetto.

*Polinucleosi da* $CO_2$ *(cavie in aria confinata) e dopo successiva respirazione in aria libera.* Media 4 cavie (Gruppo A).

(Ore 11). Prima: 70.3 % linfociti. Dopo ore 1 aria confinata: 24.8 % (ore 12).

Prima: 27.1 % polinucleari neutrofili. Dopo ore 1 aria confinata: 64.2 % (ore 12).

Successivamente. Dopo ore 1.30′ aria libera: Linfociti 23.1 % (ore 13.30).

Idem: Polimorfi 70 %.

Media 4 cavie (Gruppo B).

(Ore 11). Prima (omesse le prime prove): X linfociti. Dopo ore 1 aria confinata: 29.1 % (ore 12).

Prima: X polinucleari neutrofili. Dopo ore 1 aria confinata: 61 % (ore 12).

Successivamente. Dopo ore 1.30′ aria libera: Linfociti 28 % (ore 13.30′).

Idem: Polinucleari 64.2 %.

Successivamente. Dopo ore 1.30′ aria libera: Linfociti 27 % (ore 15).

Idem: Polinucleari 67 %.

*Conclusione.* Dopo ore 1.30′-3 (in aria libera) dalla cessazione della temporanea asfissia, non è possibile, nelle cavie digiune dalla sera avanti, sorpren-

dere una regressione dell' avvenuta polinucleosi. Anzi, per quanto assai prossime risultino, di quest' ultima, le cifre, non isfugge, alla stregua del suo comportamento, un' azione lenta, progressiva e indipendente dell' anidride carbonica.

Nel precedente mio lavoro « I leucociti del sangue circolante e il midollo osseo nell' avvelenamento da $CO_2$ » *(La Riforma medica,* n. 37, 1913) avevo visto costantemente (cavia, ratto, cane, digiuni dalla sera avanti), la formola capovolgersi nel modo più completo già alle ore 12, dopo ore 1-1.30′ di temporanea asfissia. Animali trattati invece con ossigeno, e negli stessi limiti di tempo, risultavano sempre negativi, con solo un tenue accenno a polinucleosi, perfettamente spiegata dalle analisi condotte su queste atmosfere artificiali dove l'ossigeno, pur elevandosi a cifre assai superiori a quelle dell' aria libera, non riusciva a scompagnarsi da un certo aumento di $CO_2$ il quale era, naturalmente, molto minore che nelle atmosfere dove ossigeno non si immetteva.

Accertata così l' azione inizialmente autonoma del $CO_2$ da qualsiasi altra, quel vago, molto vago accenno ad un ulteriore aumento, e progressivo, dei polimorfi circolanti, dopo che le cavie avevan successivamente respirato per ore in aria libera, valse a indugiar le mie ricerche su una questione essenzialmente di tempo, coinvolgente un plausibile effetto del digiuno, protratto ed assoluto, sugli animali.

*Azione del digiuno di per sè sulla formola leucocitaria.* Cavie digiune dalla sera avanti e saggiate alle ore 10.30′ del dì successivo venivano, in secondo tempo, riesaminate alle ore 12, dopo quindi ore 1.30′ di libero respiro, durata massima nelle precedenti ricerche raggiunta dalla respirazione coatta, durante le medesime ore del giorno.

All' intento già accennato, in altre cavie, si risparmiava il primo assaggio.

Media di 3 cavie:
(Ore 10.30'). 67.5 % linfociti. (Ore 12) 66.5 %.
(Ore 10,30'). 27 % polinucleari neutrofili. (Ore 12). 28 %.

Media di 6 cavie di cui tre novamente aggiunte (con omissione della prima prova) al gruppo precedente.

Linfociti (ore 13) 65.5 %.
Polinucleati (ore 13) 31 %.
Media delle 3 cavie aggiunte:
Linfociti (ore 14) 42.5 %.
Polinucleati (ore 14) 49 %.
Media delle 3 cavie aggiunte:
Linfociti (ore 15.30) 25 %.
Polinucleati (ore 15.30) 61.5 %.

Controlli nelle precedenti ricerche già avevano dimostrato come inversione della formola non si avesse mai quando cavie, ratti, cani, respirassero in atmosfere artificiali dove veniva fatto circolare dell' ossigeno. In queste ultime esperienze, controlli in aria libera riconfermano viemmeglio l' azione autonoma del $CO_2$ sulla formola leucocitaria normale, e dico normale, in quanto corrispondeva a ore lontane dall' ultimo pasto approssimativamente di quanto durava la notte in cui, se non affamati, questi animali non assumono mai cibo, quando anche siano liberi di farlo. Prove successive sulle cavie, perdurandone l' assoluto digiuno per periodi di tempo assai maggiori (10-20 ore) mi dimostrarono non esistere, oltre un certo limite, un rapporto diretto tra il protrarsi dell' inanizione e il grado della conseguente polinucleosi; chè è sempre possibile imbattersi in conati della formola leucocitaria verso la norma.

*Conclusione.* Cavie digiune dalla sera avanti, alle ore 12 del dì successivo, tempo in cui, nelle stesse condizioni le asfittiche (ore 1-130' in aria confinata) presentano sempre la nota inversione completa della formola, non offrono modificazioni di sorta. Ancora assai prossima alla norma può ritenersi la

formola alle ore 13. Alle ore 14 i polimorfi pareggiano, a un dipresso, il numero dei leucociti, e non è che tra le 15 e le 15.30′ che il digiuno riesce, da solo, a capovolgerne il normale rapporto.

*Azione del* $CO_2$ *e durata della relativa polinucleosi in cavie alimentate nelle prime ore dello stesso giorno.* In questo novo stato de' miei animali, precedendo l' ultimo pasto di 4-5 ore, invece che di 16 circa, com' era per tutte le altre esperienze, la formola non differiva gran fatto dalla consueta, con però una tenue diminuzione dei polimorfi, compensata da linfociti. Nonpertanto all'anidride carbonica restava la solita proprietà, sebbene il tenore dell' inversione della formola, anche qui attuabile in ore 1-1.30′ di aria confinata, risentisse e traducesse proporzionalmente le alquanto mutate condizioni della formola iniziale.

Media di 6 cavie (alimentate alle ore 6):

(Ore 10.30′). Prima: 71.1 % linfociti. Dopo ore 1-1.30′ aria confinata: 34.7 % (ore 11.30′-12).

Prima: 20 % polinucleati neutrofili. Dopo ore 1-1.30′ aria confinata: 55.6 % (ore 11.30′-12).

Avendo antecedentemente segnalata, in cavie digiune dalla sera avanti, la impossibilità di por le mani su una regressione della polinucleosi da $CO_2$, per il lento insediarsi e valere d' un' azione diversa dovuta al digiuno, era ben logico che criteri di durata della polinucleosi io sperassi da queste più favorevoli condizioni dove, per una maggiore vicinanza dell' ultimo pasto, erano allontanati gli effetti del digiuno.

Media delle 6 cavie precedenti (dopo ore 1.30′-2 di libera respirazione, succeduta alla coatta):

(Ore 13.30′-14.30′). Linfociti 46.5 %.

Polinucleari neutrofili 48 %.

È possibile ottenere un completo ripristino della formola alle cifre iniziali, in prove ripetute in ore successive? Dirò subito che, almeno nelle cavie alle quali m' attenni, ciò non mi fu dato, chè tra le ore 16 e le 17 i polimorfi erano riaumentati a scapito

dei linfociti. Evidentemente l' azione dell' assoluto digiuno già pesava coi suoi effetti autonomi, e in ore, si noti bene, non molto posteriori a quelle delle cavie digiune sin dalla sera avanti. Epperò, dopo quanto son venuto esponendo per queste ultime sul risultato negativo dei relativi controlli in aria libera, non meno che in atmosfere ricche di ossigeno, per uguali durate di tempo, vien ovvio concludere che il digiuno della notte, in animali che si cibano naturalmente di giorno, non può, negli effetti sui leucociti circolanti, riguardarsi alla stregua del digiuno diurno, gravando il secondo assai più del primo.

*Conclusione.* Il biossido di carbonio non ismette la sua proprietà di richiamar in circolo gran numero di polinucleati, in cavie alimentate anche solo da 4-5 ore. In queste condizioni è possibile imbattersi, dopo circa 2 ore dall' avvenuta respirazione coatta, in una indubbia scomparsa di polimorfi circolanti.

Mi proposi, in questa seconda parte del mio lavoro, di indagare, rispetto al $C0_2$ nel sangue circolante, qual rapporto intercedesse tra la polinucleosi da avvelenamento per $C0_2$, e quella da digiuno assoluto e protratto.

Vien da sè che, dovendosi animali vissuti in arie confinate comparare ad altri liberi nell' atmosfera, io dovessi ricorrere al dosaggio del gas direttamente nel sangue.

In cavie digiune dalla sera avanti determinai l'anidride carbonica, e in altre anche l' ossigeno, sempre nel sangue venoso, prima e dopo l' asfissia temporanea, prima e dopo la respirazione in atmosfere iperossigenate che, sotto la solita campana di vetro, intrattenevo, col metodo accennato nella mia precedente memoria. E in una seconda serie di ricerche dosai l' anidride carbonica in cavie, parimenti digiune dalla sera avanti, in ore successive del dì seguente, prima e anche dopo la rialimentazione, avendo gli animali respirato sempre in aria libera.

L' apparecchio di cui mi valsi con profitto, fu

quello di Haldane, posteriormente modificato da Brodie, apparecchio che consente un' esatta determinazione del $CO_2$ e dello $O_2$ su 1 cmc. di sangue.

« Si tratta essenzialmente di un manometro ben graduato in una branca libera, nel mentre l' altra, chiudibile al suo estremo da una chiavetta, comunica lateralmente, mediante tubo ricurvo, con un breve cilindro cavo di vetro a cui si inoscula, a perfetta chiusura, una boccetta, sospesa così come frutto al suo ramo. Il cilindro cavo superiormente si strema per accogliere un minuscolo tappo, ed ha all' interno, nel senso del suo maggior diametro, un tubetto ricurvo che, in sezione orizzontale, corrisponderebbe ad un circolo concentricamente inscritto in altro di maggior raggio. Questo tubetto, libero superiormente nel cilindro cavo che tutto lo comprende, in basso ne raggiunge con breve curva la superficie laterale, affiorandovi esattamente così da incontrarvi, ed esserne chiuso, la faccia interna del collo della boccetta, allorchè questa sia adattata al cilindro. Gli è così che, anche girando quest' ultima, bene inosculata, la chiusura inferiore al tubetto non vien mai meno, aderendo le due superficie, l' interna del collo della boccetta all' esterna del cilindro cavo, perfettamente. Ma vi ha un punto dove il regolare circuito del collo della boccia è interrotto da un' escavazione la quale, se venga a corrispondere all' estremità inferiore del tubetto descritto, ne stabilisce la comunicazione con l' interno della boccetta stessa.

« Inferiormente, il manometro, mediante un segmento di tubo originante dalla convessità della curva tra le sue branche, comunica con un serbatoio di gomma premuto da opportuna vite la quale ne modifica a piacere la capacità così che un liquido contenutovi puossi, col giuoco della vite, far salire o scendere a volontà nei tubi comunicanti dove il suo livello si conserva naturalmente uguale dalle due parti, nel mentre entrambe le branche del manometro siano aperte. Dell' apparecchio dev' esser noto il volume del tratto che, dalla boccetta compresa, si estende al tubo

ricurvo che la sospende, e quindi alla branca manometrica corrispondente, giù giù sino allo 0 della graduazione del manometro, livello a cui, nelle determinazioni dei gas, si porta e si riporta, come a punto di partenza, il liquido ascendente dal serbatoio di gomma. Questa determinazione volumetrica si può fare con del mercurio di cui si riempie, osservando la temperatura, il tratto accennato dell' apparecchio, per poi pesarlo. Si divide allora la cifra trovata per il peso specifico del mercurio, e si ha il volume cercato a quella temperatura, da cui si deduce agevolmente il volume a 0°, e a qualunque altra temperatura.

« Il liquido che si introduce nel serbatoio perchè passi, mercè la vite, nel manometro, consta di una soluzione acquosa di sali biliari (sali biliari 0.5 % + toluolo e cloruro sodico, sino a densità di 1034), sali che io stesso preparavo dalla bile di bue mescolata per un quarto del suo volume con carbone animale, essiccando poi a bagnomaria. A questo residuo si aggiunge alcool assoluto, operando estrazioni a caldo. Si filtra da ultimo, avendosene un liquido perfettamente limpido a cui si aggiunge etere distillato sul sodio, sino a che vi compaia un intorbidamento fiocconoso. Dopo 24 ore, da questo liquido, coadiuvando basse temperature, precipita una ganga biancastra e viscida la quale, siccome deliquescente, vuol esser essicata nel vuoto. Si ha così una sostanza leggiera, friabile, bianco-grigiastra, risultante appunto di sali dell' acido glicocolico e taurocolico.

« Il manometro co' suoi annessi è assicurato ad un regolo di legno munito di un gancio per cui può sospendersi al bordo di una vasca piena d' acqua dove la boccetta si immerga, indicando un termometro la temperatura del bagno. I miei dosaggi erano eseguiti sempre alla temperatura dell' ambiente, tra i 12° e i 16° C, con lo stesso apparecchio, ma per il $CO_2$ e per lo $O_2$, separatamente.

« Il sangue attinto dalle giugulari veniva raccolto in una siringa R e c o r d da cmc. 2, dove avevo

introdotto una pallina di vetro perfettamente sferica, onde agitar bene il sangue commisto ad una soluzione anticoagulante di ossalato di potassio al 4 ‰. La graduazione sul corpo della siringa, corrispondente ad 1 cmc., non potendo lo stantuffo, per l' interposta sfera di vetro, raggiungerne il fondo, era da me precedentemente stabilita. Avevo infatti pesata, in primo tempo, la siringa, con stantuffo, ago e perlina. L' avevo quindi ripesata, sempre con bilancia di precisione, dopo avervi introdotto quel tanto di ossalato che capiva nell' ago-canula e nel tratto del suo corpo richiesto dal diametro della sfera di cristallo, oltre la quale lo stantuffo era impedito di avanzare. In una terza pesata poi, aspiravo, dopo l' ossalato che già si trovava nella siringa (II pesata), acqua distillata per il peso di gr. 1, segnandone provvisoriamente sul vetro il volume corrispondente. Vuotavo da ultimo la siringa per riassumervi, dopo la solita dose di ossalato, cmc. 1 di sangue al posto dell' acqua distillata. Agitando e spingendo lo stantuffo sino ad incontrar la sferetta, dalla siringa sarebbe fluito 1 cmc. di una miscela dove, ad una parte preponderante di sangue, sarebbe stata pur sempre commista una frazione di ossalato potassico. Ond' è che, mediante successive pesate, portai la quantità della miscela a tale che contenesse 1 cmc. di sangue, segnandone definitivamente, con una scalfittura sul corpo della siringa, il relativo volume.

« La tecnica dei dosaggi è relativamente semplice. Staccata la boccetta dal manometro, vi si introducono cmc. 2 di una soluzione ammoniacale (cmc. 2 di $NH_3$ del peso specifico di 1088, in 1000 cmc. di acqua distillata). Nella siringa, già contenente l' ossalato, si aspira dalla vena la quantità di sangue necessaria, indicata dalla stabilita graduazione, si agita e, delicatamente, nella boccetta, si sottopone 1 cmc. di sangue alla soluzione ammoniacale che, siccome più leggiera, vi galleggia perfettamente, impedendo il contatto con l' aria. Con cautela si inoscula al cilindro cavo del manometro la boccetta, in modo che

l' escavazione del suo collo, non corrispondendo all' apertura inferiore del tubetto, questo non comunichi con l' interno della boccetta.

In questo tubetto, e attraverso la sovrastante strematura del cilindro cavo che lo comprende, si versa allora, mediante un' apposita pipetta annessa all' apparecchio e provvista di una bolla della capacità di cmc. 0.25, una soluzione di acido tartarico al 20 %, se voglia dosarsi l' anidride carbonica, o una soluzione satura di ferrocianuro di potassio, nel caso dello $O_2$. Si chiude poi subito con minuscolo tappo di vetro la strematura superiore del cilindro cavo e, dopo essersi accertati che i menischi della soluzione di sali biliari nel manometro siano allo zero, si chiude alla sua volta, con la chiavetta, la branca manometrica provvistane, e che è soltanto quella a cui è omai solidale la boccetta. In queste condizioni tutto il tratto dell' apparecchio compreso tra la boccia e il menisco dei sali biliari dallo stesso lato, è fuori del contatto dell' aria. Agitando allora dolcemente l' apparecchio si provvede a un' intima mescolanza tra la soluzione ammoniacale e il sangue che vi era sottoposto. In virtù di questo laccaggio del sangue, si ha subito nel tratto d' apparecchio isolato dall' aria, una pressione negativa la quale importa un' ascesa del menisco nella branca chiusa corrispondente del manometro. Collateralmente il menisco della branca aperta si abbassa sotto lo zero. Quando, dopo un tempo sufficiente, i menischi così slivellati restino immobili per il cessare dell' aspirazione (laccaggio), girando la vite premente sul serbatoio di gomma, si riporta a zero il menisco della branca aperta e si legge, sulla graduazione del manometro, occorrendo con lente, il livello a cui è giunto, dopo questo riporto, il menisco nella branca chiusa. E la cifra occorre per il successivo calcolo. Valutato così, in un primo tempo, il laccaggio, si ruota pian piano, intorno al cilindro cavo la boccetta che vi si trova inosculata, in modo da portarne a coincidere l' escavazione del collo con l' apertura inferiore del tubetto compreso nel cilindro

stesso. Dischiusa così la comunicazione con l' interno della boccetta, il liquido contenuto nel tubetto precipita nella sottoposta boccia. Si agita ripetutamente e si veglia il conseguente svolgimento del gas, per la pressione positiva del quale, il menisco nella branca chiusa del manometro, seguendo un cammino inverso al precedente, si abbassa per elevarsi nell' aperta. Per quantità sufficienti del gas, il menisco nella branca chiusa, è sospinto sotto lo 0, che segna il punto di partenza. In tal caso, ancora con la vite del serbatoio, si porta a zero il menisco, questa volta, della branca chiusa, per leggere il livello a cui sarà arrivato l' altro nell' aperta. E si ottiene una seconda cifra che andrà sommata alla prima, onde aver pronto un elemento del calcolo.

« Nell' evenienza, e può occorrere, che il gas svoltosi non sia bastato a dislocare sotto lo zero il menisco della branca chiusa, girata in contrario senso la vite del serbatoio, si abbassa allo zero il menisco della branca aperta, per leggere sulla chiusa, indicatavi dal livello del rispettivo menisco, una cifra che si sottrae dalla precedente (laccaggio), addizionando poi il resto col numero che rappresenta il laccaggio stesso.

« Per questi volumi del gas i quali vengono trovandosi, vuol essere notata la temperatura e la pressione barometrica del momento in cui la determinazione vien fatta, onde ridurre a 0° e a 760 mm. il volume letto, applicando la nota formola:

$$V^{o}_{760} = \frac{V^{t}\,(H-F)}{760\,(1+\alpha t.}$$

« Per conoscere infine la quantità di gas corrispondente alla cifra data dal dosaggio, si applica la formola di Haldane-Barcroft, moltiplicando la cifra trovata per la capacità (cc. 25,448, nel mio apparecchio) del tratto di manometro, di tutta la boccetta e annessi, diminuito (cc. 22,234) dei volumi dei liquidi di reazione aggiunti (cc. 2 soluz. ammoniac. + cc. 1 sangue + cc. 0.25 acido tartarico

($CO_2$) o ferrocianuro ($O_2$). Il prodotto così ottenuto, va poi diviso per 1000. Dalla quantità di gas contenuta in 1 cc., si deduce agevolmecte il percento ».

*L' anidride carbonica nel sangue (venoso) di cavie in atmosfera confinata (asfissia temporanea).* Subito dopo aver determinato il $CO_2$ in cavie, digiune dalla sera avanti, e di cui il peso era approssimativamente (gr. 300-350) quello delle cavie che m' eran servite nelle precedenti ricerche, le sottoponevo alla solita campana (capacità cc. 8000). E per non discostarmi dal piano generale delle ricerche dove la temporanea asfissia durava un' ora circa per ogni coppia di cavie, del peso complessivo di gr. 650-700, insieme all' animale adibito all' esperienza e che, per la rapidità, nei limiti del possibile, del secondo prelevamento di sangue, aveva l' altra giugulare già isolata, ponevo sotto la campana una seconda cavia, compagna, su cui non si eseguiva alcun dosaggio.

Media di cinque cavie (in giorni differenti).

(Ore 11). Prima: $CO_2$ = 41 %. Dopo (ore 1 asfissia): $CO_2$ = 53.51 %. Differ. 12.51 %.

Come appare dallo specchietto (Analisi delle atmosfere artificiali-aria confinata), riportato nella mia prima memoria *(loco citato)* alla fine di periodi all'incirca equivalenti di respirazione sotto la consueta campana di vetro, gr. 650-700 di animale, vi lasciavano un' atmosfera dove il $CO_2$ era salito a 11.9 % da 0,03 % che era nell' aria libera. Collateralmente lo $O_2$ vi era scaduto a 0,61 %. Se non che, tra il diminuir dello $O_2$ e l' aumento del $CO_2$, nessun rapporto può essere posto, essendo noto, e Lavoisier l' aveva dimostrato sulle chiocciole, che l'acido carbonico esala dall' organismo, indipendentemente dall' assunzione dell' ossigeno nei polmoni, e dal suo assorbimento nel sangue. Verosimilmente, come rileva Luciani, esso proviene dai tessuti dove trovasi già formato e disciolto nel sangue venoso dal quale si libera attraverso i vasi polmonari.

*L' ossigeno nel sangue (venoso) di cavie in atmosfera confinata (asfissia temporanea).* Il procedimento fu analogo al precedente.

Media cinque cavie (in giorni differen i).

(Ore 11). Prima: $O_2$ = 24.32 %. Dopo (ore 1 asfissia): $O_2$ = 21.85. Differenza = 2.47 %.

E richiamando ancora lo specchietto precedente, troviamo che, nell' aria confinata corrispondente a queste determinazioni dirette nel sangue, l' ossigeno dal 20.96 % (aria libera), discendeva a 0,61 %.

Da questo raffronto vien ovvio considerare la assai scarsa corrispondenza tra la diminuzione dell' ossigeno nell' atmosfera confinata e quella che fu possibile provocare nel sangue degli animali i quali vi respiravano, senza, naturalmente, venirvi mai a morte per asfissia.

Bohr ed Hüfner fornirono delle ricerche fondamentali alla nozione dell' assorbimento dell' ossigeno nel sangue, agitando una soluzione al 14 % di emoglobina pura, sia con aria normale, che con arie artificiali contenenti dosi di ossigeno gradatamente minori, quindi riconoscendo quanto $0_2$ si combinasse o si liberasse dall' emoglobina con l' aumentare o meno della sua pressione parziale nelle miscele gassose. I risultati di Hüfner con cui i miei, per questa via immediata, s' accordano, dimostrano che il sangue, per l' affinità chimica dell' emoglobina per lo $0_2$ può procurarsene in abbondanza, anche se l'organismo respiri in aria assai povera di detto gas.

*L' anidride carbonica nel sangue (venoso) di cavie in atmosfera iperossigenata.* Per la disposizione in questo caso della campana di vetro, rimando alla mia prima memoria.

Media di cinque cavie (in giorni, come sempre, diversi).

(Ore 11). Prima: $C0_2$ = 36.02 %. Dopo (ore 1 aria iperossig.): $C0_2$ = 38.98 %. Differenza + 2.96 %.

L' analisi da me praticata per questa varietà di atmosfera artificiale dava per lo $0_2$ 90.39 %, in con-

fronto di 20.96 % (aria libera), e un collaterale aumento, relativamente tenue, che non evitai, anche per il $CO_2$, valutato a 0,60 % di fronte a 0,03 % (aria libera).

Questi risultati ottenuti, anche direttamente sul sangue, nel mentre spiegano, alla stregua del tenue aumento del $CO_2$ in circolo, la modesta polinucleosi neutrofila che si associava alla respirazione degli animali nelle mie atmosfere iperossigenate, dimostrano come, con la circolazione da me intrattenuta nella campana, piuttosto che aumentar lo $O_2$ in circolo, dove esso si dimostra, nelle accennate condizioni, restio a variazioni quantitative di qualche rilievo, si riesce solo a impedire un forte aumento dell' anidride carbonica.

*L' ossigeno nel sangue (venoso) di cavie in atmosfera iperossigenata.* Media di cinque cavie. (Ore 11). Prima: $O_2$ = 21.62 %. Dopo (ore 1 aria iperossigenata): $O_2$ = 21.00 %. Differenza = —0,62 %.

Le mie atmosfere artificiali iperossigenate, come già dissi, contenevano 90.39 % di $O_2$, in luogo di 20.96 % (aria libera).

Ben dimostrano questi risultati come riesce difficile aumentare l' ossigeno in circolo, anche se vi sia, rispetto a questo gas, così favorevole l' ambiente, nello stesso modo che riesce arduo diminuirlo in condizioni corrispondenti. Ed è ancora alle esperienze di Hüfner, con cui non discordano, per altra via, queste mie, ch' io debbo riferirmi, ricordando come questo autore abbia appunto dimostrato, non potere l' assorbimento dell' ossigeno nel sangue aumentare notevolmente oltre la norma, quando anche l' organismo respiri in aria costituita di ossigeno puro.

*Conclusione.* L' analisi delle atmosfere confinate, trovano, per quanto concerne il $CO_2$, un adeguato riscontro nei risultati di quelle sul sangue (venoso) di animali che vi abbiano respirato, riscontro il quale manca per l' ossigeno di cui è evidente la

tendenza a oscillare intorno a cifre assai prossime tra loro, indipendentemente dalla varia composizione delle miscele gassose agli animali stessi fornite.

*L' anidride carbonica del sangue (venoso) di cavie digiune.* Gli animali erano a digiuno assoluto dalla sera, per esser adibite alle prove il dì seguente la prima volta tra le ore 10 e le 11, la seconda, dopo ore 3-4.30', sempre in aria libera.

Credo superfluo ricordare come in nessuna di queste determinazioni di cui, solo per brevità, riferisco, come al solito, le medie, io ottenessi risultati discordi. Nota è, d' altra parte, un' influenza dell' alimentazione, non meno che dei diversi alimenti sul valore del coefficiente respiratorio.

Media di sei cavie. (Ore 10.30'). Prima determinazione : $C0_2$ = 34.84 %. Seconda determinazione (dopo ore 3-4.30'): $C0_2$=31.96 %. Differenza—2,88 %.

*L' anidride carbonica del sangue (venoso) di cavie digiune e successivamente rialimentate.* In giorni diversi, le cavie erano isolate dagli alimenti la sera e sottoposte al primo dosaggio, ancora tra le ore 10 e le 11 del giorno dopo. (Media di sei cavie $C0_2$ = 36 %). Dopo la prima prova ciascuna cavia era rimessa al cibo (verdura fresca), e vi restava sino al momento della seconda prova. Dopo ore 2, nessuna differenza nell' avvenuta diminuzione (digiuno) del $C0_2$, dopo 3 ore, il gas nel sangue si trovò approssimativamente al tasso primitivo, dopo 5-6 ore, se ne ebbe un aumento di 8.84 % (media di 4 cavie).

*Conclusione.* Il digiuno assoluto e protratto non aumenta il $C0_2$, ma tende, sia pur modestamente, a diminuirlo, nel sangue (venoso). La rialimentazione, in conformità, lo aumenta dopo 4-6 ore di ininterrotto contatto con cibo, delle cavie dapprima digiune. La polinucleosi neutrofila da digiuno, se non si tenga conto che del $C0_2$, è indipendente da quella per avvelenamento da anidride carbonica.

*I leucociti, l' anidride carbonica e l' ossigeno del sangue nel digiuno dell' uomo.* Queste mie ricerche, nei riguardi del digiuno assoluto e della rialimentazione, estesi infine all' uomo sano, per opportuni raffronti, adibendo alla bisogna me stesso. E perchè il parallelo fosse legittimo con organismi ai quali sottraevo ogni alimento, così mi astenni anche dai liquidi.

Peso all' inizio delle esperienze kgr. 73.800.

Peso dopo due giorni e due notti di assoluto digiuno kgr. 68.300.

Una perdita quindi di kgr. 5.500 in 48 ore, non avendo interrotto il lavoro impostomi dai conteggi e dosaggi ripetuti.

1° giorno (ore antimeridiane). Leucociti (camera di Türk): 5000.

Formola leucocitaria. Linfociti 26 %; grossi mononucleati 2 %; forme di passaggio 7 %; polinucleati neutrofili 65 %; eosinofili 0,6 %.

Gas del sangue. (I salassi mi venivano eseguiti da colleghi della Clinica dalle vene degli avambracci). $0_2$ = 26.27 %. $C0_2$ = 51.72 %.

Urine. Reperto chimico normale, nulla di notevole nel sedimento.

1° giorno (ore pomeridiane). Nelle variazioni numeriche che qui riferisco, aumenti o diminuzioni, si intendano sempre riferiti alle cifre corrispondenti delle prove iniziali.

Leucociti : + 2050.

Formola leucocitaria. Approssimativamente immutata.

Gas del sangue. $0_2$ = —0.81 %. $C0_2$ = —2.77 %.

2° giorno (ore antimeridiane). Leucociti: + 1696.

Formola leucocitaria : + 9 %; polinucleati neutrofili a scapito dei linfociti.

Gas del sangue. $0_2$ = —8.56 %. $C0_2$ = —7.53 %.

2° giorno (ore pomeridiane). Leucociti : + 3000.

Formola leucocitaria : + 6 % : polinucleati neutrofili a scapito dei linfociti.

Gas del sangue. $0_2$ = —9.10 %; $C0_2$ = —6.72 %.

Urine delle ultime 24 ore cmc. 300 intensamente acide. Peso specifico 1032. Acetone assente. Albumina presente. Sedimento: rari cilindri ialini.

Intorno al reperto su di me riscontrato nelle urine durante il secondo giorno del digiuno assoluto, ricorderò come albuminuria già sia stata, in condizioni analoghe, posssibile nei digiunatori Cetti e Breithaupt, dopo la prima settimana, e come von Noorden l'abbia segnalata già dopo due giorni. Allo stesso modo albumina e cilindri furono constatati da Nebelthau. Nel digiuno si inscenano dei perturbamenti di nutrizione del tessuto renale, forse dovuti a veleni autoctoni; è questa l' opinione di von Noorden, il quale, sulla guida di osservazioni proprie, concluse poter il digiuno ledere transitoriamente l' epitelio renale.

Un risentimento siffatto, certo non trascurabile per digiuno assoluto, da parte dell' emuntorio renale, mal trova ogni sua ragione d' essere in modificazioni soltanto della composizione dei gas del sangue, quali quelle su me stesso accertate, epperò la polinucleosi da digiuno, implicando altre cause, non va riguardata, a mio giudizio, alla stregua d' una reazione paradossa, in quanto possa coincidere anche con modeste diminuzioni dell' anidride carbonica nel sangue (venoso). Per cavie infatti, temporaneamente asfittiche, alla polinucleosi da biossido di carbonio, trovai, nel sangue, far riscontro un aumento di 12.51 % del gas; per le cavie digiune, una diminuzione soltanto del 2,88 %.

Ritengo pertanto che i due fenomeni a carico dei leucociti, i quali non abbisognano certo che lo stimolo sia sempre il medesimo, qualitativamente, per entrar in azione, siano indipendenti, non solo rispetto all' efficienza quantitativa della medesima causa, chè questo dimostrai nel modo più diretto, ma anche nei riguardi della natura stessa della causa atta a produrli. E ricordo, siccome non estranee alle tesi le ricerche di G. Aiello ed A. Solaro i quali

nel digiunatore Succi riscontrarono un aumento della tossicità urinaria.

*Rialimentazione dello stesso soggetto.* Dopo la prima assunzione di alimenti, iniziata con vera ripugnanza, si mantenne per del tempo vivissima la sete. Dolori ossei, accusati dal secondo dì del digiuno (alito acetonico, lingua patinosa), regredirono quasi subito d' intensità, perdurando, attenuati, per 5-6 giorni.

Dopo 14 ore (notte) dal pasto per cui avevo riacquistati d' un tratto kgr. 2,400, questi erano i reperti :

Leucociti : 5300.

Formola leucocitaria. Linfociti 29 % ; grossi mononucleati 2.6 % ; forme di passaggio 4.3 % ; polimorfonucleati neutrofili 64 % ; eosinofili 0 %.

Gas del sangue. $0_2$ = 24.41 % ; $C0_2$ = 51.17%.

*Conclusioni.* Anche nell' uomo, una polinucleosi neutrofila da digiuno, non coincide con un aumento del $C0_2$, ma piuttosto con una sua diminuzione nel sangue. Come nelle cavie, anche nell' uomo, manca un rapporto diretto tra grado della polinucleosi e durata del digiuno. L' ossigeno, del pari, subisce nel digiuno assoluto e potratto una diminuzione.

## BIBLIOGRAFIA.

M. Ciovini. I leucociti del sangue circolante e il midollo osseo nell' avvelenamento da anidride carbonica. *La Riforma medica,* n. 37, 1913.—G. Brodie. Some new forms of apparatus for the analysis of the gases of the blood by the chemical method. *The journal of Physiology* Vol XXXIX 1909-10 pag. 391.—C. von Noorden. Der Hunger und die chronische Unterernährung. Handbuch der Pathologie des Stoffwechsels pag. 536-538.—L. Luciani. Fisiologia dell' uomo.